Aus der Chirurgischen Klinik A und Poliklinik der
Universitätsklinik Düsseldorf
Direktor: Prof. Dr. K. Kremer

DAS VERHALTEN DES SPUREN-ELEMENTES ZINK BEI DER KNOCHENBRUCHHEILUNG DES KANINCHENS

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

BARBARA STAWINOGA

1980

1981

Aus der Chirurgischen Klinik A und Poliklinik der
Universitätsklinik Düsseldorf
Direktor: Prof. Dr. K. Kremer

DAS VERHALTEN DES SPUREN-ELEMENTES ZINK BEI DER KNOCHENBRUCHHEILUNG DES KANINCHENS

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

BARBARA STAWINOGA

1980

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez.: Prof. Dr. med. H.L. Krüskemper

Referent
gez.: Prof. Dr. med. D. Moschinski

Korreferent
gez.: Prof. Dr. med. W. Klein

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Druck: aku-Fotodruck, Gleueler Str. 217,
5000 Köln 41, Tel. 43 72 57

Herrn Prof. Dr. D. Moschinski danke ich für die freundliche Überlassung des Themas und für die zahlreichen Anregungen bei der Durchführung und Abfassung der Arbeit. Mein Dank gilt ferner Herrn Dr. med. K. Milachowski für die Betreuung bei der Durchführung der Arbeit.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536504_0075

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1.	EINLEITUNG	7
1. 1.	Möglichkeiten einer Beschleunigung der Frakturheilungszeit	7
1. 2.	Pathophysiologie der Frakturheilung	14
1. 3.	Die Bedeutung des Spurenelementes Zink	17
1. 4.	Die Problemstellung unserer Versuchsreihe	21
2.	MATERIAL UND METHODIK	23
2. 1.	Versuchsanordnung	23
2. 2.	Untersuchungsmethoden	23
2. 2. 1.	Röntgenuntersuchung	27
2. 2. 2.	Histologische Untersuchung	27
2. 2. 3.	Prüfung der Biegebelastbarkeit	27
2. 2. 4.	Zinkbestimmungen im Blut und Knochen	29
2. 3.	Statistik	32
2. 3. 1.	Anordnung der Tierversuche	32
2. 3. 2.	Mathematisch - statistische Auswertung	33
3.	ERGEBNISSE	35
3. 1.	Allgemeiner Versuchsablauf	35
3. 2.	Röntgenergebnisse	35
3. 3.	Ergebnisse der Biegebelastung	38

		Seite
3. 4.	Makroskopische Beurteilung	39
3. 5.	Lichtmikroskopische Beurteilung	40
3. 6.	Zinkkonzentration im Blut	41
3. 7.	Zinkkonzentration im Knochen	45
3. 8.	Statistische Auswertung der Zinkkonzentrationen im Knochen	51
4.	DISKUSSION	56
5.	ZUSAMMENFASSUNG	58
6.	LITERATURVERZEICHNIS	59

1. EINLEITUNG

1. 1. Beschleunigung der Frakturheilungszeit

Seit mehr als 100 Jahren ist die Frage einer möglichen Stimulierung der Knochenneubildung Gegenstand der Forschung. Bis heute gibt es jedoch keine zuverlässige Methode, die Ausheilung eines Knochenbruches durch Anregung der Knochengewebsentwicklung zu beschleunigen. Weder chemische noch physikalische, diätische oder medikamentöse, klimatische oder am neurovegetativen System angreifende Verfahren haben sich - trotz mancher Teilerfolge - bisher als erfolgversprechend oder am Menschen praktikabel erwiesen.

Seit BARCROFT, BONNAR und EDHOLM (1937), KÜNTSCHER (1955), BLOCK (1956), GEISER (1963) und L. BOEHLER (1967) feststellten, daß es weder mit Vitaminen, Hormonen noch Medikamenten gelinge, die knöcherne Heilung von Frakturen zu beschleunigen, sind wieder zahlreiche Mitteilungen über Methoden veröffentlicht worden, die Kallusbildung fördern.

So berichten KOSKINEN (32, 33), LINDHOLM und PAASIMÄKY über eine Beschleunigung der Frakturheilung durch eine Kombination von Wachstumshormon und Thyreotropin. UDUPA und GUPTA fanden, daß Wachstumshormone die direkte Transformation neu geformter Kollagenfasern im Knochen fördern. Die Verabrei-

chung von Thyroxin bewirkte die vermehrte Bildung von Knorpel im initialen Kallus: Durch Kombination des Wachstumshormons und des Thyroxins komme somit eine Beschleunigung der Kallusbildung zustande. Sie berichten auch über eine beschleunigte Verknöcherung durch Verabreichung von Östrogen, kombiniert mit Dinabol, und somit einer Verkürzung der knöchernen Heilung von Frakturen.

MARUTIO wies an Radiusfrakturen von Kaninchen nach, daß Testosteron-Propionat zur Förderung der Kallusbildung führt, während Cortisonderivate dieselbe hemmen.

Nach UDUPA und SINGH bewirkt Methandrostenolon eine schnellere Mineralisierung des Frakturkallus. JANEC beschleunigte an weißen Ratten die Mineralisierung des Kallus mit Superanabol.

Dieses Präparat hatte außerdem eine stimulierende Wirkung auf die Osteoblasten und unterstützte die Bildung der organischen Knochenmatrix.

KOSKINEN, LINDHOLM und LIUKKO fanden eine Verlangsamung der Frakturheilung durch Hydrocortison.

Dagegen beobachteten DE PONTI und BACCARI, daß bei verzögerter Bruchheilung Cortison dann die Heilung beschleunigte,

wenn die Globulinfraktion angestiegen und die Albuminfraktion vermindert war.

SINGH und UDUPA wiesen nach, daß Frakturen bei Ratten unter Insulinbehandlung schneller heilten. Sie führen dies auf den anabolen und wachstumssteigernden Effekt des Hormons zurück.

BELOUS und PANKOV induzierten durch Ribonukleinsäure die spezifischen Prozesse der Differenzierung der osteogenetischen Elemente und brachten damit Knochendefekte an Kaninchen-Speichenknochen schneller zum Abheilen.

Homologe Ribonucleinsäuren accelerierten auch bei Ratten die Frakturheilung. Hochkonzentrierte Ribonukleinsäure übte einen hemmenden Effekt aus. Zusätzliche Beschallung mit Ultraschall brachte keine Beschleunigung der knöchernen Heilung (BELOUS, PANKOV, GUSOKAVA, SAVENKO und TIMOSCHENKO).

MASTRORILLI konnte mit Dimethazine, einem synthetischen Steroid, eine Beschleunigung der Konsolidierung von Frakturen an Menschen erzielen.

Durch Amino-Acetonitril wurde die Proliferation von osteogenetischen Zellen angeregt und so bei Ratten die Regeneration nach Rippenresektion acceleriert (ALLEN und HARRISON).

Die Heilung experimenteller Frakturen an der Rattentibia wurde durch N-Acethylaminhexanoiosäure vorangetrieben. Der untersuchte Kallus war reicher an Mucopolysacchariden, Kollagen und alkalischer Phosphatase (FLANDRE, DAMON, SECCHI, PEILLEX und ANTOINE).

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen NOSNY, CARON, GRINDREY et al. bei der Osteogenese nach Fraktur der Hunde-Ulna.

Mit Adenosintriphosphorsäure und Phosphocreatin erzielte FANTATO bei Kaninchen eine schnellere Frakturheilung, die er auf eine Förderung der Transphosphorilierung zurückführte. FÖLDES erreichte mit Phosphatestern eine raschere Kallusbildung an frakturierten Rattenfemora. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen BETHGE und ALTENÄHR mit der intrafrakturären Injektion von alkalischer Phosphatase bei Unterschenkelbrüchen von Kaninchen. BETHGE beeinflußte die Frakturheilung durch Bleiacetat positiv.

Mit einem Gesamtknochenextrakt (Ossopan) riefen MILLIST, DAVIS und BROADHURST bei Menschen über 55 Jahren eine Beschleunigung der knöchernen Heilung von Tibia- und Fibulafrakturen hervor. COLAGO, BENFER, STRUCK und HERNANDEZ-RICHTER brachten mit Kollagen Defekte in Rattentibiae und Hunderippen schneller zum Verschluß. Chondroitinsulfat bewirkte eine raschere Bildung von Knochen im Zahnlager von

Hunden nach Extaktion von Zähnen (MOSS, KRÜGER und REYNOLDS). CURRI und CAMPAILLA stimulierten durch direkte Infiltration von Hyaloronsäure in Knochendefekte an Ratten die chondro-osteoplastische Differenzierung. MAZHUGA und BATYUK injizierten Zellen aus osteogenetischen Wachstumszonen an Tiere mit frakturierten Knochen und konstatierten, daß geringe Dosen dieser Antigene die Knochenbildung beträchtlich anregten. BEDACHT stimulierte die Frakturheilung von Röhrenknochen durch Kollagen.

Vitamin A in niedriger Dosierung bewirkte eine Beschleunigung der Kallusbildung an Frakturen von Albinoratten (UPUDA und GUPTA).

NIINIKOSKI, PENTTINEN und KULONEN brachten durch hyperbaren Sauerstoff die Frakturheilung bei Ratten voran.

Eierschalenfutter verwendeten LELKES und MESZAROS mit Erfolg. TARSOLY und TOMORY füllten eine Mischung von Eierschalenpulver und sterilisiertem Gips in die Knochendefekte an Hundeschienbein und -femur und konnten diese damit schneller zum knöchernen Verschluß bringen.

BORNEMISZA und BAKO erzielten ähnliche Effekte mit Polymethylacrylat.

Keinen Unterschied in der Wirkung von Eierschalengips und Methylmetacrylat fanden SCHUHMACHER und WISCHHUSEN.

Die Injektion von Dondren brachte keine Beschleunigung der Kallusbildung an Kaninchentibien (KNOCH und KRAMER).

Interessant ist auch die Beobachtung von WOYTALIK, der durch Antibiotika (Streptomycin, Oxatetracyklin u.a.) eine deutliche Verlangsamung der Kallusbildung bewirkte.

PIPINO und SIMONE nehmen an, daß eine Kaliumüberschußdiät bei Patienten mit Frakturen von Vorteil sei. PRASAD,SANKARAN und DESHPANDE prüften einen Extrakt aus Uraria picta. KNOCH berichtete, daß durch Ultraschallbehandlung eine bessere Differenzierung des Frakturkallus an der Kaninchentibia hervorgerufen werden könne.

LAVINE, PAWLUCK und BASSETT konnten Knochendefekte durch Strom aus subcutan implantierten Batterien schneller zum Verschluß bringen. CIESZYNSKI berichtete über eine Beschleunigung der Frakturheilung durch von außen angelegte elektrische Felder. Durch Anwendung des Batteriegleichstroms und des induzierten Wechselstroms, sowie pulsierenden Batteriegleichstroms gelang es WEIGERT (55), Tibiaquerosteotomien an Kaninchen, die durch Osteosyntheseplatten unter Druck fixiert waren, im Rechts-Links-Versuch einer schnel-

leren Heilung zuzuführen.

BOEHLER (15) beobachtete eine Beschleunigung der Osteotomieheilung beim Kaninchen unter dem Einfluß des Fibrinklebesystems (FKS). Dabei handelt es sich um einen biologischen Gewebekleber, bei dem hochkonzentriertes Fibrinogen mit Überschuß von Thrombin und Faktor XIII zu Fibrin polymerisiert wird. Dieser Vorgang, der die letzte Phase der Blutgerinnung simuliert, erfolgt am Ort der Wahl und ergibt ein zähes Fibringerinnsel. Dieses bewirkt neben seiner Klebewirkung eine ausgezeichnete Blutstillung sowie Anregung einer Granulationsgewebsbildung.

MOUSSAWI und Mitarbeiter (38) beschrieben bei Ratten unter Faktor XIII - Substitution mit doppelter klinischer Dosis eine signifikante Stimulierung der Frakturheilung.

Die Bedeutung, die Zink für die Knochenbruchheilung besitzt, ist in der letzten Zeit v.a. von BATTISTONE et al. (8, 9) sowie MILACHOWSKI et al. (37) unterstrichen worden. Ein Überblick über den bisherigen Stand der Erforschung der Bedeutung des Spurenelementes Zink wird unter Punkt 1. 3. gegeben.

1. 2. Pathophysiologie der Frakturheilung

Die Fraktur ist eine vollständige oder unvollständige Kontinuitätsunterbrechung von Knochengewebe. Sie löst eine gesetzmäßige Reaktion des Gewebes aus, die zu einer Wiederherstellung der Knochenkontinuität führt (45, 46).

Bei jeder Fraktur werden Gefäße im Knochen, im Mark und im Bereich des Periosts zerrissen. Durch scharfe Fragmentkanten und Fragmentspitzen können auch benachbarte Gefäße mitverletzt werden (4). Die Folge ist ein Bluterguß zwischen den beiden Frakturenden, das Frakturhämatom. Da auch immer ernährende Gefäße des Knochens mitverletzt werden, kommt es an den Frakturenden zu mehr oder weniger großen nekrotischen Zonen.

Die folgende aseptische posttraumatische Entzündung bildet die Grundlage für die Resorption des Blutergusses, für die Vernarbung verletzter Weichteile und für das Auftreten von Osteoblasten.

Kurz nachdem Kapillaren in den Defektbereich einwachsen, treten Bindegewebszellen auf, die die Interzellularsubstanz bilden. Der größere Teil dieser Zellen wird mit dem Blut (z.B. Monozyten) in den Defektbereich transportiert, wo sie sich zu Bindegewebszellen transformieren. Die übrigen

Bindegewebszellen leiten sich vom Periost, vom Endost, von adventitiellen Zellen der Blutgefäße des umgebenden Weichteilgewebes, der Haversschen Kanäle und des Markraumes ab.

Durch das entstehende Granulationsgewebe werden die Frakturenden miteinander verbunden und es entsteht der provisorische bindegewebige Kallus.

Nach einer weiteren Transformation der Bindegewebszellen zu Osteoblasten wird Osteoid produziert, in den anschließend Hydroxylapatit eingelagert wird. Dadurch entsteht der provisorische knöcherne Kallus, der aus Faserknochen besteht.

Nachfolgend wird unter dem Einfluß mechanischer Kräfte der Faserknochen in lamellären Knochen umgebildet und der periostale Knochen abgebaut. Damit ist dann der definitive knöcherne Kallus entstanden.

Von der beschriebenen Form der Knochenbruchheilung unterscheidet man die primär angiogene Knochenbildung, die unter stabilen Osteosynthesebedingungen bei der Heilung eines gebrochenen Röhrenknochens auftritt. Wenn der Frakturspalt durch Kompression eng adaptiert wird, wachsen die Osteone von der einen in die andere Corticalis hinüber, wobei Osteoklasten an der Spitze der Osteone unter Abbau nekrotischer Knochenpartien den Weg bahnen. Ist der sonst stabile Fraktur-

spalt etwas geöffnet, so wachsen aus dem peri- und endostalen Gebiet Gefäßsprossen ein, welche primären Knochen bilden. Der knöchern ausgefüllte Spalt wird erst sekundär von umbauenden Osteonen durchsetzt. Diese Art der Knochenbruchheilung verläuft also nicht über eine bindegewebige Vorstufe wie beim Kallus.

Es besteht kein qualitativer Unterschied zwischen der kallusbildenden und der sog. "kalluslosen" Knochenbruchheilung. Es handelt sich lediglich um verschiedene Erscheinungsformen desselben biologischen Regenerationsprinzips.

Beide Arten der Knochenbruchheilung kommen bei den meisten Osteosynthesen nebeneinander vor. Bei absolut stabilen Osteosynthesen treten an den Implantaten keine Resorptionen und keine reaktive Kallusbildung (Reizkallus) auf; der Frakturspalt wird allmählich unscharf und verschwindet bald, ohne daß eine Kallusbildung erkennbar wird. Ist die Osteosynthese nicht ganz stabil, entsteht durch Mikrobewegungen an den Fragmenten ein Reizkallus, der die Fraktur dann aber auch bald fixiert (Fixationskallus) (28).

1. 3. Die Bedeutung des Spurenelementes Zink

Seit über einhundert Jahren ist bekannt, daß Zink für das Wachstum von Mikroorganismen essentiell ist (RAULIN, 1869) (43). Aber erst 1934 wurde durch TODD und Mitarbeiter gezeigt, daß Ratten dieses Spurenelement für Wachstum und Entwicklung benötigen (51).

Ein Zinkmangel manifestiert sich bei den verschiedenen Tierspezies recht einheitlich in einer periorifiziell und akral betonten Dermatitis, Alopezie, Hodenatrophie, Augenveränderungen, Gewichtsverlust und Wachstumsrückstand mit schweren Skelettschäden (5, 18, 26).

Studien eines Syndromes von Eisenmangelanämie, Hepatosplenomegalie, Hypogonadismus, Zwergwuchs und Geophagie im Iran ließen PRASAD und Mitarbeiter (40) 1961 neben einem Eisen- auch einen Zinkmangel vermuten.

PRASAD und Mitarbeiter konnten dann auch 1963 in Ägypten (41) sowie später HALSTED und Mitarbeiter im Iran (25) einen alimentären Zinkmangel des Menschen nachweisen. Die Symptome bestanden in Wachstumsverzögerung mit Zwergwuchs, verzögerter sexueller Entwicklung, rauher Haut mit Hyperpigmentation, Atrophie der Nägel und offenen Epiphysen. Zusätzlich war das Knochenalter signifikant herabgesetzt.

Durch Zinkzufuhr konnte dieser Wachstumsstillstand ausgeglichen werden.

Zink ist für zahlreiche metabolische Prozesse im Organismus unentbehrlich. Seine biologische Bedeutung ist jedoch trotz intensiver Forschung, gerade im Hinblick auf die Erklärung der Symptome des Zinkmangels noch nicht ausreichend bekannt. Die biologische Bedeutung des Zinks dürfte einmal im Vorkommen von Zink-Metalloenzymen und zum anderen in der Beeinflussung der Proteinsynthese liegen (14). Erst 1940 wurde das erste Zink-Metalloenzym, die Carboanhydrase, durch KEILIN und MANN (31) entdeckt. Durch die einfache und empfindliche Bestimmung des Zinks mit Hilfe der Atomabsorptionsspektrophotometrie und Fortschritte in der Reindarstellung von Proteinen sind mittlerweile über 40 Zink-Metalloenzyme bekannt. Zink wurde sowohl in DNA-Polymerasen als auch in einer RNA-Polymerase gefunden (6, 7, 48). Die von verschiedenen Autoren beschriebene Hemmung der Synthese von DNA (24, 34) und RNA (52, 54) bei Zinkmangel könnte daher durchaus ihre Ursache in einer verminderten Aktivität der RNA- und DNA-Polymerase haben mit der Folge einer reduzierten Proteinsynthese. Die gestörte DNA-Synthese wird von SWENERTON und Mitarbeiter (50) auch für den sehr hohen Prozentsatz schwerer kongenitaler Mißbildungen bei Zinkmangel verantwortlich gemacht (30).

Die höchsten Zinkkonzentrationen im Gewebe von Mensch und Tier findet man im Auge, männlichen Genitalorganen, Haar sowie Muskel und Skelett (2, 16, 18, 26).

Ungefähr zwei Drittel der Gesamtzinkvorräte des Menschen (1,5 g nach THOMPSEN und KING 1964) sind als Langzeitdepots im Knochen gespeichert. Zink scheint in das Apatitmolekül fest eingebaut zu sein, da eine hochsignifikante Korrelation zum Kalziumgehalt des Knochens besteht (LUTZ 1975). Offensichtlich sind die Zinkvoräte nur über einen Knochenabbau zu mobilisieren (17). Ein Zinkmangel bewirkt auch eine Abnahme der Zinkkonzentration im Knochen (29). HAUMONT untersuchte 1961 die Verteilung von Zink im Knochen mittels histochemischer und mikroradiographischer Methoden. Er kam zu dem Schluß, daß Zink vor allem in der Nähe von Kalzifikationszonen lokalisiert ist und daß Zink genau in der Schicht des bindegewebigen Kallus vorliegt, deren Kalzifikation gerade bevorsteht. BERGMANN beschrieb 1972 bei Ratten, die unter Zinkmangel litten, eine verzögerte Umwandlung des Knorpels in Knochengewebe, Dickenverminderung des Wachstumsknorpels und vermindertes Knochenlängenwachstum (11). CALHOUN und Mitarbeiter (19, 20) haben durch ihre Versuche an Ratten mit ^{65}Zn eine verstärkte Akkumulation von markiertem Zink an den Zonen der Knochenheilung nachweisen können.

Aus diesen Studien läßt sich die bedeutende Rolle, die Zink

für die Osteogenese besitzt, ableiten, wobei der genaue Wirkungsmechanismus noch nicht geklärt ist. Es ist nicht möglich von den vorliegenden Untersuchungen abzuleiten, ob die generalisierte Störung der enchondralen Wachstumszone bei Zinkmangel einen spezifischen Effekt des Zinkmangels darstellt oder ein sekundäres Phänomen einer Inaniation ist oder beides (10). Nach FOLLIS (1958) ist das wachsende Skelett ein extrem empfindliches Gebiet, so daß Chondrozyten und Osteoblasten auf eine partielle oder totale Inaniation unspezifisch mit Wachstumsverzögerung oder sogar Wachstumsstillstand reagieren könnten.

1. 4. Problemstellung unserer Versuchsreihe

Ziel dieser Studie sollte es sein, die Bedeutung des Spurenelementes Zink für die Knochenbruchheilung am dynamisch belasteten Knochen des Kaninchens zu untersuchen.

An einem standardisierten Frakturmodell wurde in einer ersten tierexperimentellen Untersuchung das Verhalten des für den Knochen- und Bindegewebsstoffwechsel so wichtigen Spurenelementes Zink geprüft, indem die Zinkkonzentrationen im Blut und in den standardisierten Knochenabschnitten mittels Atomabsorptionsspektroskopie ermittelt wurden. Wir wählten dieses Verfahren, da es der exaktesten Untersuchunsmethode, der Neutronenaktivator-Analyse, vergleichbare Werte liefert.

Schon in den ersten Jahren der Atomabsorptionsspektroskopie beschäftigten sich DAVID (21) und ALLAN (3) ausführlich mit der Bestimmung von Zink und fanden, daß die Atomabsorptionsspektroskopie bei der Bestimmung dieses Elementes allen anderen bisherigen Verfahren überlegen ist. In einer Luft/Acetylen-Flamme läßt sich auf der 2138-A-Resonanzlinie eine Empfindlichkeit von 0,002 ug/ml 1% und eine Nachweisgrenze von etwa 0,002 ug/ml erreichen. In einer Luft/Wasserstoff-Flamme erhält man ein besseres Signal/Rausch-Verhältnis und eine Nachweisgrenze von etwa 0,001 ug/ml. Die Bestimmung von Zink scheint in einer Luft/Acetylen-Flamme frei von Inter-

ferenzen zu sein, wie SPRAGUE und SLAVIN (49) bei der Analyse biologischen Materials feststellten.

2. MATERIAL UND METHODIK

2. 1. Versuchsanordnung

Unsere Versuche wurden an erwachsenen Kaninchen der Rasse "Chinchilla Bastard" mit einem mittleren Gewicht von 2 750 ± 250 g durchgeführt. Die Auswahl der Tiere erfolgte nach dem Zufallsprinzip (randomisierte Studie).

Die Haltung der Tiere erfolgte in Einzelkäfigen. Leitungswasser und Futter (Höveler K 813) standen ad libitum zur Verfügung. Das Kaninchenfutter hatte einen durchschnittlichen Zinkgehalt von 131 mg/kg.

Geplant war eine totale Kontinuitätsunterbrechung der Tibia und eine Fixation der beiden Frakturenden in leichter Distraktion, um eine verstärkte Kallusbildung hervorzurufen.

Die Versuche wurden an Kaninchentibiae vorgenommen, da hier die Corticalis dicker als am Femur ist und die Schraube somit mit mehreren Schraubengängen einen besseren Halt gewinnt.

Sämtliche Tiere wurden mit Nembutal i.v. narkotisiert. Nach dem Hautschnitt, der parallel zur Vorderkante der rechten Tibia verlief, wurden die darunterliegenden Weichteile mit

dem Periost spärlich stumpf abgeschoben. Nach guter Darstellung der medialen Tibiafläche wurde eine Vier-Loch-Drittelrohr-Platte aus dem Kleinfragmentinstrumentarium der AO appliziert. Anschließend wurde in Höhe der Mitte der angelegten Platte mittels einer oszillierenden Säge eine Doppelosteotomie angelegt und ein drei Millimeter breiter Knochenzylinder entnommen (Abb. 1 und 2). Der Defekt wurde nicht aufgefüllt. Abschließend wurde die Wunde schichtweise vernäht und mit Sprühverband behandelt. Die Osteosynthese war belastungsstabil, so daß eine äußere Fixierung z.B. durch Gips nicht notwendig war.

OSTEOSYNTHESE DER KANINCHENTIBIA

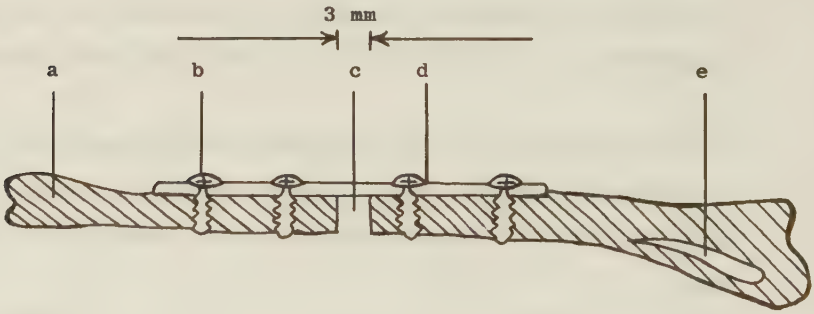

Abb. 1:
Skizze des operativen Vorgehens

a Tibia
b Cortikalisschraube
c Drittelrohrplatte
d Osteotomiespalt
e Fibula

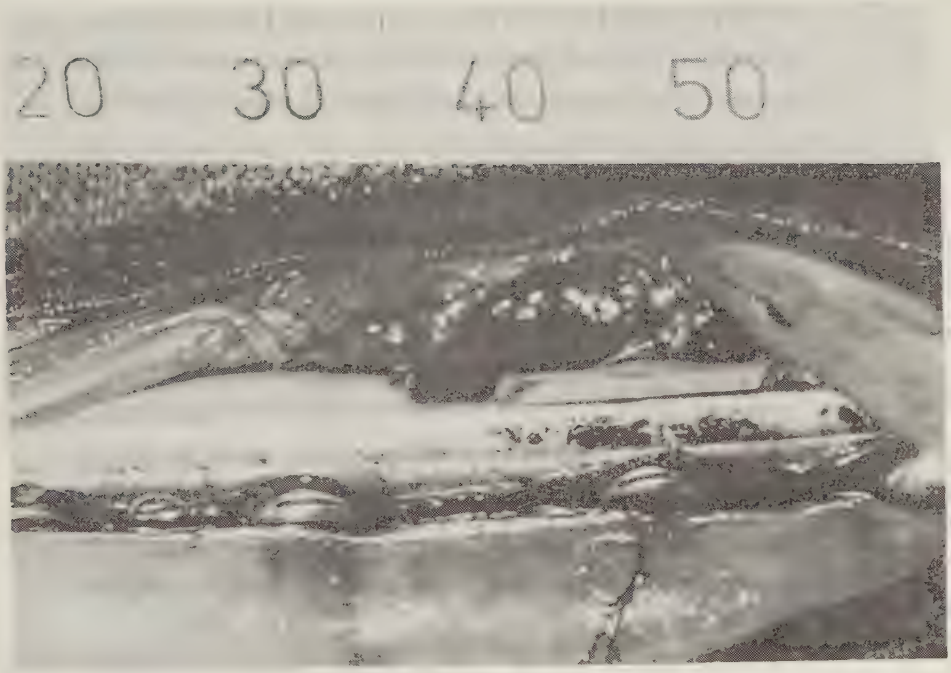

Abb. 2: Operationssitus der rechten Tibia bei Operation 4.

Von den 30 zur Verfügung stehenden Tiere wurden 6 Tiere in einem Vorversuch zur Ermittlung der Standardwerte mit einer Überdosis Nembutal getötet.
Es wurden 24 Tiere operiert. Nach 3, 6 und 9 Wochen wurde je eine Gruppe von 8 Tieren getötet.

Es wurden deshalb so große Zeitabstände gewählt, da nur Knochengewebe zur vergleichenden Analyse kommen sollte. Aus Vorversuchen wußte man, daß in der Frühphase der Frakturheilung der Bindegewebskallus keine dem Knochen, sondern dem Bindegewebe vergleichbaren Werte liefert.

Unmittelbar nach der Tötung erfolgte die Entnahme von 5 ml Blut intrakardial zur Spurenelementuntersuchung und die Durchführung von Röntgenaufnahmen der operierten Tibiae. Anschließend wurden die die Tibiae umgebenden Weichteile sorgfältig abpräpariert. Das Osteosynthesematerial wurde entfernt und die Biegebelastung durchgeführt. Dann wurden die Tibiae in 1 cm lange Knochenzylinder unterteilt und mittels Atomabsorptionsspektroskopie auf ihren Zinkgehalt hin untersucht. Aus der ersten und zweiten Gruppe (nach 3 und 6 Wochen) wurde je eine operierte Tibia histologisch aufgearbeitet.

2. Untersuchungsmethoden

2. 1. Röntgenuntersuchung

Die Röntgenbilder wurden 3, 6 und 9 Wochen post operationem nach Tötung der Tiere mit einem Spezialfilm (Medichrome Film von AGFA) angefertigt. Wir wählten einen Objekt-Blenden-abstand von 90 cm und einen Objekt-Filmabstand von 3 cm. Die Belichtungszeit betrug 60 msec bei 40 kV und 20 mAS.

2. 2. Histologische Untersuchung*

Die histologische Untersuchung erfolgte anhand von Paraffin-schnitten, die mit Hämatoxylin-Eosin, Eisen-Hämatoxylin und Pikrofuchsin nach van Gison, kombiniert mit Resorzin gefärbt wurden. Von allen Tibiae wurden 6 Schnittstufen angefertigt.

2. 3. Prüfung der Biegebelastbarkeit

Für die Bestimmung der Biegebelastbarkeit wurde sowohl der operierte als auch der gesunde gegenseitige Knochen geprüft.

Für die freundliche Unterstützung möchte ich mich bei Herrn Prof. HUTH, Pathologisches Institut der Universität Düsseldorf herzlich bedanken.

Wir wählten hierfür die einfache Querdurchtrennung durch zunehmende Belastung (Abb. 3). Der Knochen wurde waagerecht eingespannt. Bei der folgenden Querbelastung wurde das Gewicht um jeweils 0,5 kg erhöht. Die maximal ausgeübte Belastung des Knochens betrug bei unseren Versuchen 20 kg.

BELASTUNGSVERSUCH IN VITRO

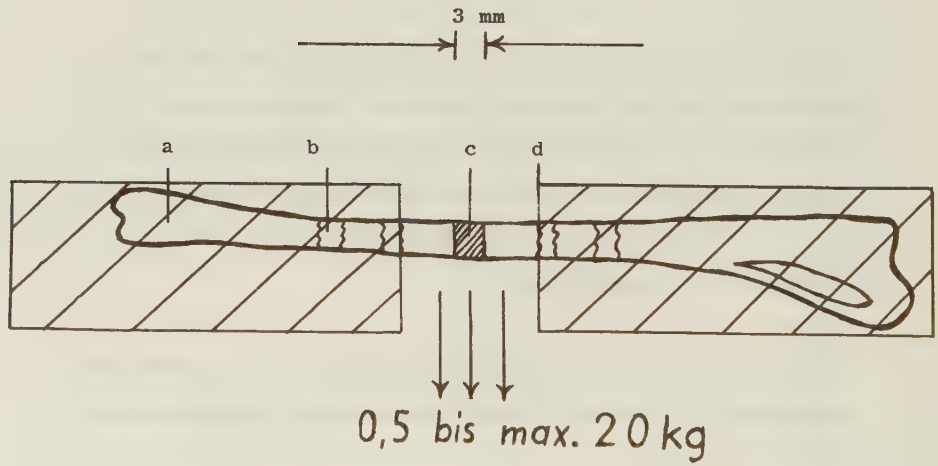

Abb. 3:
Belastungsversuch
3, 6 und 9 Wochen
post operationem

a Tibia
b Bohrloch
c mit Kallus überbrückter Osteotomiespalt
d Fixation des Knochens in Höhe der medialen Bohr löcher

2. 4. Zinkbestimmung im Blut und Knochen *

Das intrakardial entnommene Blut wurde direkt nach der Entnahme mittels Ammonium-EDTA stabilisiert und in speziell spurenelementfreien Kunststoffröhrchen nach BÖTTCHER zum Versand gebracht.

Die Tibiae wurden in gleich große Abschnitte von 1 cm Länge unterteilt. Der proximale Anteil wurde mit A, der Frakturbereich mit B und der distale Teil mit C bezeichnet (Abb. 4). Die Knochenproben wurden in unfixiertem Zustand in spurenelementfreien Kunststoffröhrchen zur Untersuchung gebracht.

Verarbeitung der Knochenproben:
Die Knochen wurden im Exsikkator über P_2O_5 unter 14 - 16 mm Hg bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Eine Knochenprobe wurde analytisch gewogen. Im Naßaufschluß wurden 0,5 - 0,8 g Knochen mit 2 ml Salpetersäure in einem Kjeldahlkolben abgeraucht. Dieser Prozeß wurde noch einmal mit 2 ml konzentrierter Salpetersäure

* Die Zinkbestimmungen im Blut und Knochen wurden mittels Atomabsorptionsspektroskopie freundlicherweise von der Dr. Franz Köhler Chemie KG durchgeführt.

wiederholt, worauf der verbleibende Rückstand schneeweiß war. Nach dem Abkühlen wurde mit 0,5 - 1,0 ml konzentrierter Salzsäure versetzt, um eine klare Lösung zu erhalten. Bei Bedarf wurden noch 1 - 2 ml Hermann'sche Lösung hinzugefügt und leicht erwärmt. Nach der gleichen Methode wurde ein Leeraufschluß durchgeführt, also ohne Mitverwendung einer Knochenprobe. Die entstandene wasserklare Lösung wurde anschließend mit Hermann'scher Lösung auf 20 ml aufgefüllt. Diese Stammlösung diente zur Bestimmung des Zinks.

Es wurde das AAS-Gerät der Firma EVANS Elektroselenium Ltd., Halsted, Essex, Marke: 240 mark 2 verwendet.

Parameter zur Zinkbestimmung:

Verdünnung	-	1 : 200
Wellenlänge	-	213,9 nm
Spalt	-	4
Verstärkung	-	5 Amp.

UNTERTEILUNG DER TIBIAE IN 1 cm LANGE KNOCHENZYLINDER

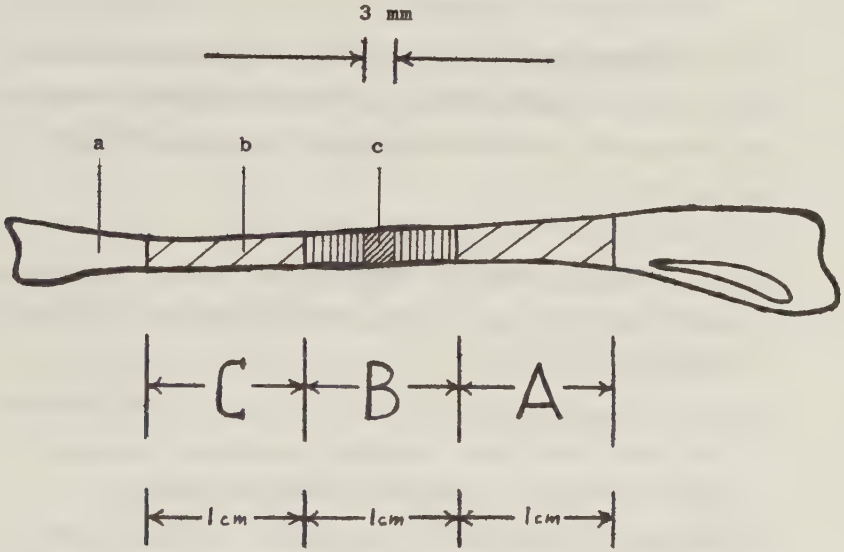

Abb. 4:
1 cm lange Tibiazylinder, die gesondert auf ihren Zink-Gehalt hin untersucht wurden

a Tibia
b 1 cm langer Knochenzylinder
c mit Kallus überbrückter Osteotomiespalt

2. 3. Statistik *

2. 3. 1. Anordnung der Tierversuche

Die Ergebnisse müssen statistischen Anforderungen gerecht werden und reproduzierbar sein. Hierzu müssen die Versuche von vornherein entsprechend geplant und ausgearbeitet werden (35).

Folgende allgemeine Versuchsbedingungen gilt es zu beachten:

1) Es sollen Tiere mit gleichem Reaktionsvermögen verwendet werden.
2) Um die Schwankungsbreite weiter einzuschränken, werden die Tiere stets unter gleichen Bedingungen gehalten: temperaturkonstanter Raum, Licht und Ernährung.
3) Eine der wichtigsten Voraussetzungen bei allen biologischen Versuchen ist die Vermeidung systematischer Verfälschungen der Resultate durch einseitige Auswahl der Tiere. Jedes Tier muß daher die Chance haben, zu jeder Gruppe zu gelangen. Deshalb erfolgt die Zuteilung zu den Gruppen streng zufällig.

* Für die freundliche Unterstützung bei der Bewältigung des statistischen Teils möchte ich mich bei Herrn Lippert und Herrn Dr. Willers Rechenzentrum der Universität Düsseldorf recht herzlich bedanken.

3. 2. Mathematisch - statistische Auswertung

Um festzustellen, ob es sich bei den Unterschieden der Meßwerte, die bei den einzelnen Zinkbestimmungen gefunden wurden,um zufällige Abweichungen oder um reale Unterschiede handelte, wurde das erhaltene Zahlenmaterial statistisch überprüft.

Wir wählten als Verfahren die Varianzanalyse, die die simultane Kontrolle mehrerer Variablen ermöglicht und die für die statistische Bearbeitung komplexer Fragestellungen eher geeignet ist als einfache Mittelwertsvergleiche.

Unter der allgemeinen Bezeichnung "Varianzanalyse" verbirgt sich eine Vielzahl von Einzelmethoden, mit deren Hilfe Meßwerte, die von einer oder mehreren simultan wirksamen Variablen abhängen, analysiert werden können, um zu bestimmen, in welchem Ausmaß die untersuchten unabhängigen Variablen einzeln und/oder in kombinierter Form auf die abhängige Variable Einfluß nehmen (57).

Wir benutzten eine Varianzanalyse mit den 3 Faktoren: "Gruppe" (3, 6 und 9 Wochen), "Abschnitt" (A, B und C) und "Seite" (rechts und links), wobei "Abschnitt" und "Seite" bei abhängigen Meßwiederholungen gemessen wurden.

Zur statistischen Bearbeitung stand uns der Computer Telefunken 445 zu Verfügung.
Wir benutzten das Programm: BMDP 77, Programm 2V, Version April 77.
Dieses Programm wurde im Health Sciences Computing Facility, UCLA entwickelt.

3. ERGEBNISSE

3. 1. Allgemeiner Versuchsablauf

Den Versuchszeitraum überlebten alle Tiere.
Die Gewichte der Tiere hatten sich nach 3, 6 und 9 Wochen statistisch nicht signifikant verändert (2 800 $\pm$ 200 g).
Die Wunde heilte in allen Fällen primär.
Bei einem Tier kam es nach 3 Wochen nach Plattenlockerung zur Infektion und bei einem zweiten Tier war nach 6 Wochen, ebenfalls nach Plattenlockerung, die Tibia in Fehlstellung verheilt.

Nach Abzug der beiden operierten Tibiae, die histologisch aufgearbeitet wurden, kamen somit nach 3 Wochen 2 x 6 Tibiae, nach 6 Wochen wieder 2 x 6 Tibiae und nach 9 Wochen 2 x 8 Tibiae zur Spurenelementanalyse; insgesamt wurden also 2 x 20 Tibiae untersucht.
Blut wurde nach 3 Wochen von 7, nach 6 Wochen ebenfalls von 7 und nach 9 Wochen von 8 Tieren entnommen.

3. 2. Röntgenergebnisse

Nach 3 Wochen ist auf dem Röntgenbild bereits ein deutlicher Mineralisationsschleier erkennbar (Abb. 5). Nach 6 Wochen wird der Defekt durch starke Knochenlamellen überbrückt (Abb. 6),

während er nach 9 Wochen kaum noch abgrenzbar ist.·

Abb. 5:

Röntgenbild 3 Wochen post operationem

Es ist bereits ein deutlicher Mineralisationsschleier erkennbar

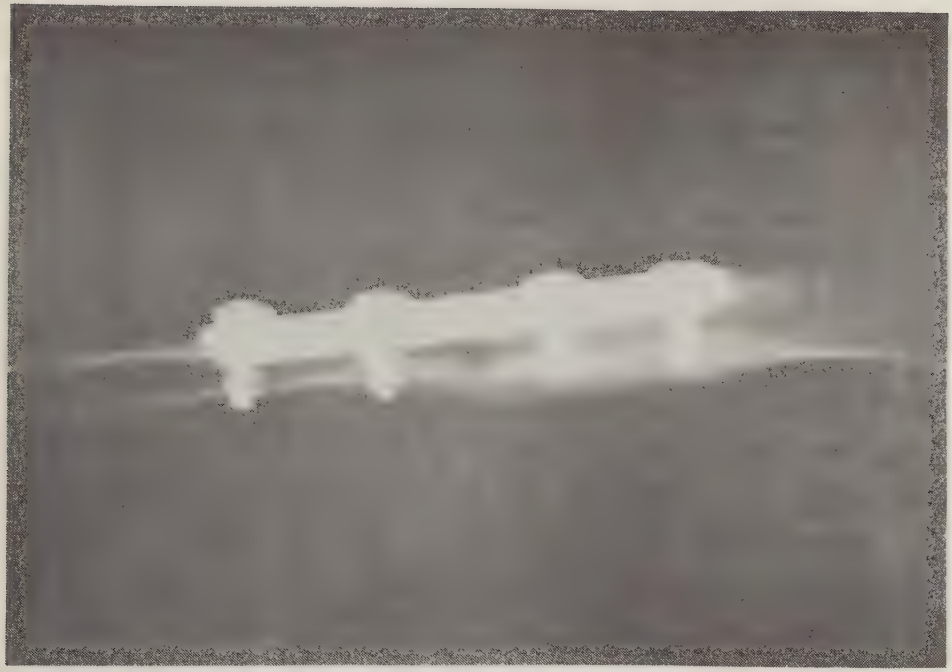

Abb. 6:

Röntgenbild 6 Wochen post operationem

Der Defekt wird bereits durch starke Knochenlamellen überbrückt.

3. 3. Ergebnisse der Biegebelastung

Nach 3 Wochen war der Kallusbereich der Tibiae im Mittel mit einem Gewicht von 4,5 kg (3,0 - 6,5 kg) belastbar, bevor es zur Refraktur kam.
Nach 6 und 9 Wochen hielten alle Tibiae einer Belastung von 20 kg stand (Abb. 3 und Tab. 1).

3 WOCHEN	6 WOCHEN	9 WOCHEN
4,5 KG	UEBER	UEBER
(3,0 - 6,5 KG)	20 KG	20 KG

Tab. 1:
Biegebelastungsprüfung
Es wurde eine Querbelastung der waagerecht eingespannten Knochen durchgeführt.

3. 4. Makroskopische Beurteilung

Die simulierten Frakturen waren durchweg gut verheilt. Die Ausbildung des periostalen Kallus war recht unterschiedlich (Abb. 7).

Abb. 7:
2 Tibiae, 9 Wochen post operationem (OP 20 und 21)
An dem unteren Präparat wurde die Platte belassen, um die starke Kallusbildung, die sogar die Platte umschließt, zu demonstrieren.

3. 5. Lichtmikroskopische Beurteilung

Ergebnisse nach 3 Wochen:

Der Knochendefektbereich ist durch geflechtartiges Knochengewebe mit herdförmiger, lamellärer Schichtung überbrückt. Die zellreichen Knochenspangen sind von dichten Osteoblastensäumen umgeben. Dazwischen liegen schmale osteoide Streifen. Die Compacta der Defektgrenzbereiche zeigt eine leichte hyperostotische Verdickung. Das geflechtartige Knochengewebe reicht seitlich unter Einschluß kleiner Knorpelzellinseln wulstförmig über das Periost hinaus. Das angrenzende Knochenmark ist leicht fibrös verdichtet, intensiv vaskularisiert und schütter granulozytär infiltriert. Daneben finden sich kleine, lipophage Granulome mit Fremdkörperriesenzellen nach Fettmarknekrosen. In 3 bis 10 mm Abstand zum überbrückten Defekt ist auf beiden Seiten ein von spärlichem, knöchernen Detritus ausgefüllter und ebenfalls von neugebildetem, geflechtartigem Knochen gesäumter Schraubenkanal. Nirgendwo ist ein Anhalt für eine bakterielle Infektion.

Ergebnisse nach 6 Wochen:

Der histologische Befund weicht nicht wesentlich von dem vorher beschriebenen Bild ab. Die knöcherne Überbrückung des Defektbereichs läßt eine weitgehende Umwandlung des geflechtartigen, neugebildeten Knochen in lamellärgeschichteten erkennen. Die Zahl der Osteozyten ist gegenüber dem Vorbefund leicht reduziert.

3. 6. Zinkkonzentration im Blut

Die ermittelten Zinkwerte im Blut sind aus Tabelle 2 ersichtlich. Zur Veranschaulichung wurden alle erhaltenen Werte, nach Gruppen getrennt, auf Millimeterpapier dargestellt (Abb. 8).

ZINKSPIEGEL IM BLUT (m mol / l)

Nullwerte	3 Wochen	6 Wochen	9 Wochen
0,054	0,066	0,063	0,056
0,055	0,060	0,067	0,068
0,063	0,060	0,064	0,047
0,063	0,068	0,063	0,063
0,057	0,077	0,065	0,068
0,063	0,068	0,053	0,075
0,058	0,065	0,065	0,067
0,068			0,066
0,062			
0,066			
n = 10	n = 7	n = 7	n = 8

Tab. 2:
Einzelwerte der Zinkkonzentrationen im Blut in m mol / l.

In Tabelle 2 sind unter der Nullwert-Gruppe 10 Werte angeführt, da wir auch bei den ersten 4 operierten Tieren intraoperativ Blut zur Spurenelementuntersuchung entnommen haben.

ZINKSPIEGEL IM BLUT (m mol / l)

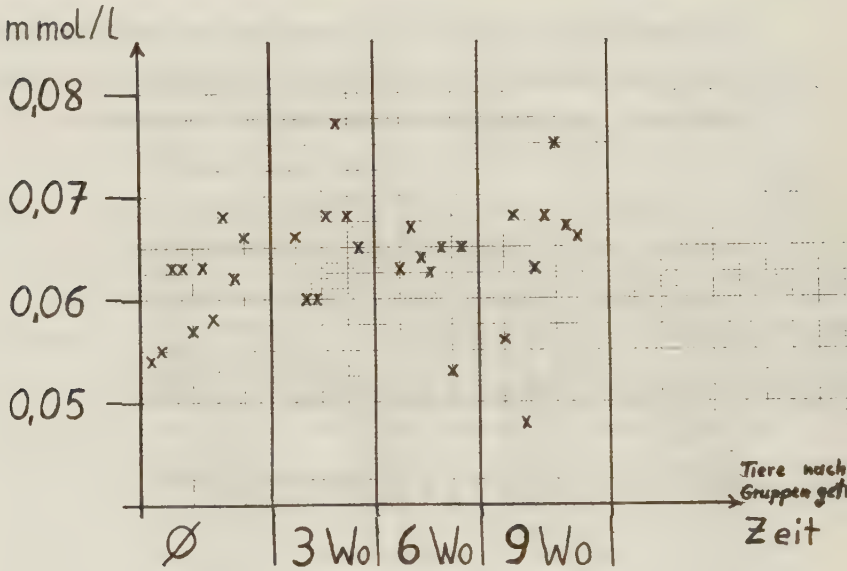

Abb. 8:

Einzelwerte der Zinkkonzentrationen im Blut.

Aus Tabelle 3 und Abbildung 9 kann man die Mittelwerte in den einzelnen Gruppen und die Standardabweichung ersehen.

Bis auf einen geringfügigen Anstieg der Zinkkonzentration in

der dritten Woche ist das Verhalten der Zinkkonzentration im Blut während der Frakturheilung unauffällig.

ZINKKONZENTRATION IM BLUT (m mol / l)

NULLWERT	3 WOCHEN	6 WOCHEN	9 WOCHEN
0,061	0,067	0,063	0,064
+ - 0,0047	+ - 0,0068	+ - 0,0046	+ - 0,0078

Tab. 3:
Mittelwerte und Standardabweichung der Zinkkonzentrationen im Blut bei gesunden Tieren und bei Kaninchen während der Frakturheilung.

ZINKKONZENTRATION IM BLUT (m mol / l)

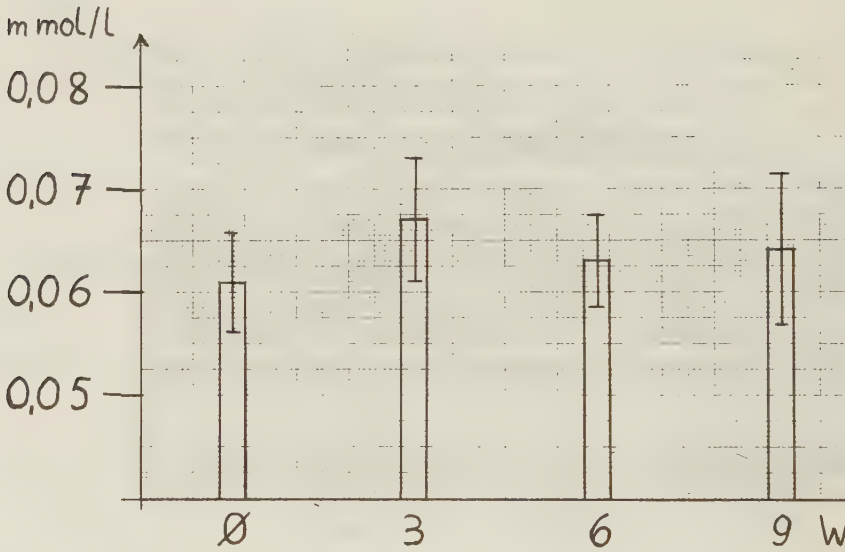

Abb. 9 :

Histogramm der Mittelwerte der Zinkkonzentrationen im Blut.

3. 7. Zinkkonzentrationen im Knochen

Die Verteilung der ermittelten Einzelwerte ist aus den Abbildungen 10, 11, 12 und 13 zu ersehen.
In den einzelnen Gruppen (0, 3, 6 und 9 Wochen post operationem) wurden jeweils die rechte (operierte) und die linke (nicht-operierte) Seite einander gegenübergestellt. Außerdem wurden in den einzelnen Abbildungen die Werte für die Abschnitte A, B und C unterschiedlich kenntlich gemacht.

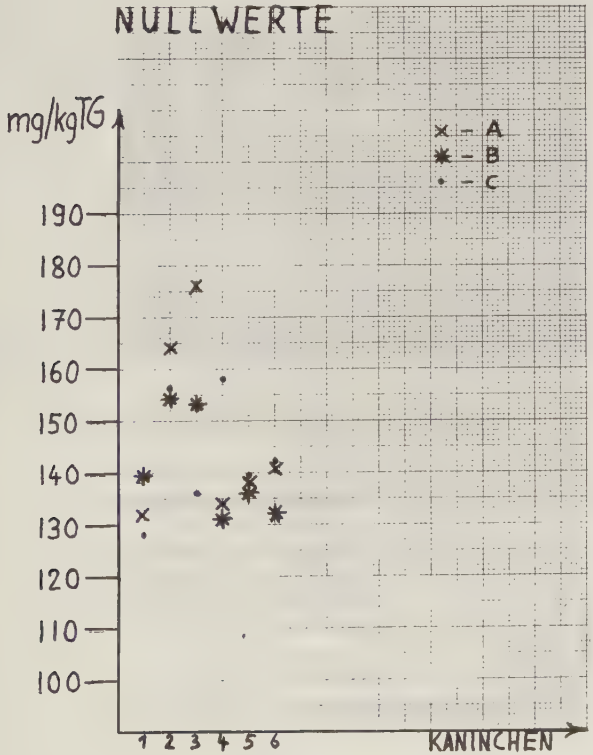

Abb. 10 : Zinkkonzentrationen im Knochen bei gesunden Kaninchen.

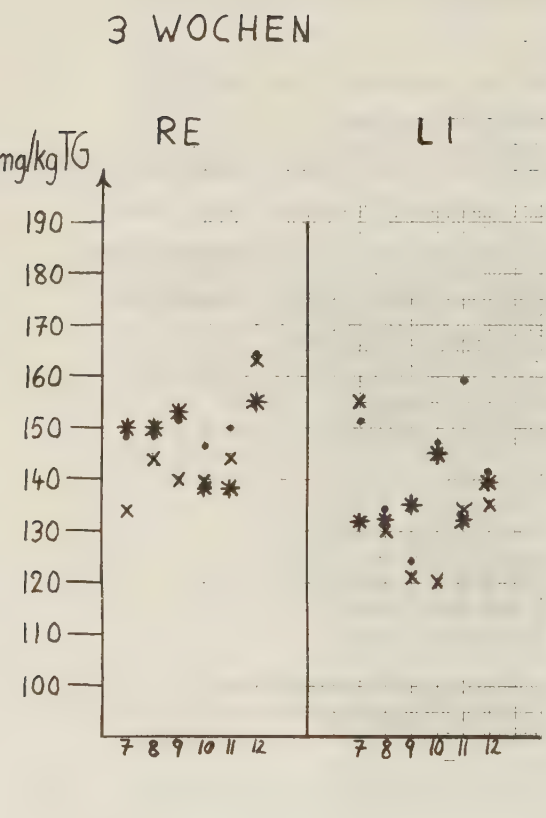

Abb. 11 :
Zinkkonzentrationen im Knochen 3 Wochen post operationem.

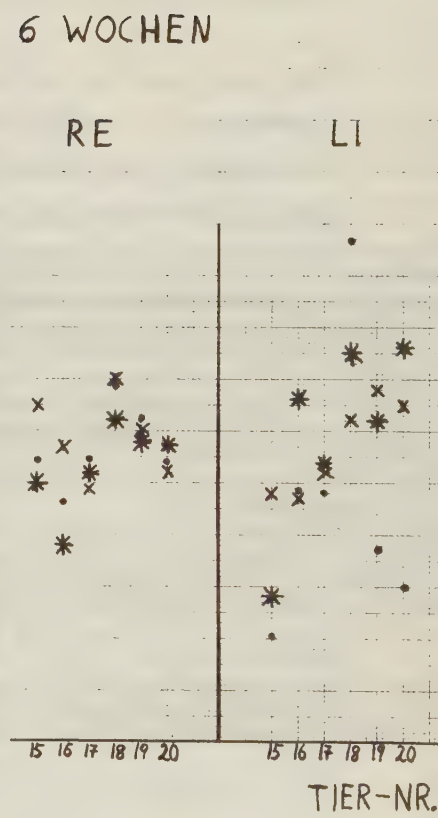

Abb. 12 :
Zinkkonzentrationen im Knochen 6 Wochen post operationem.

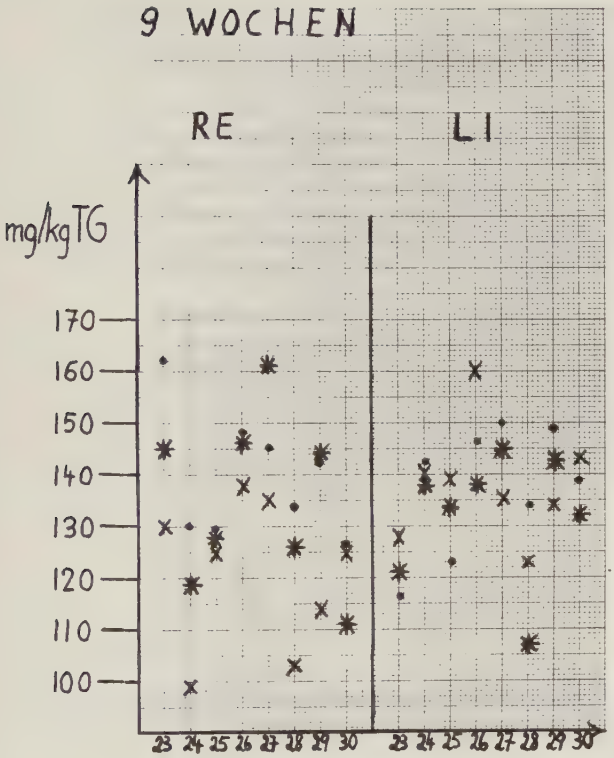

Abb. 13 : Zinkkonzentrationen im Knochen 9 Wochen post operationem.

Anschließend wurden die Mittelwerte und die Standardabweichung für die einzelnen Untergruppen ermittelt. Die erhaltenen Werte sind aus Tabelle 4 und 5 zu ersehen. In Abbildung 14 wurden die Mittelwerte des Abschnitts B der rechten und linken Seite einander gegenübergestellt.

	3 Wochen	6 Wochen	9 Wochen
AR	144. 17	148. 50	121. 20
BR	147. 42	142. 93	135. 00
CR	151. 75	146. 40	139. 27
AL	132. 58	147. 07	139. 29
BL	136. 00	150. 23	134. 18
CL	142. 58	135. 57	141. 01

Tab. 4 :

Mittelwerte der Zinkkonzentrationen im Knochen in mg / kg TG (Tiergewicht).

	3 Wochen	6 Wochen	9 Wochen
AR	9. 93	8. 27	13. 90
BR	7. 35	8. 51	15. 59
CR	6. 26	8. 30	11. 90
AL	12. 75	9. 17	11. 29
BL	5. 26	17. 89	13. 13
CL	12. 52	27. 13	15. 89

Tab. 5 :

Standardabweichung der Mittelwerte der Zinkkonzentrationen im Knochen.

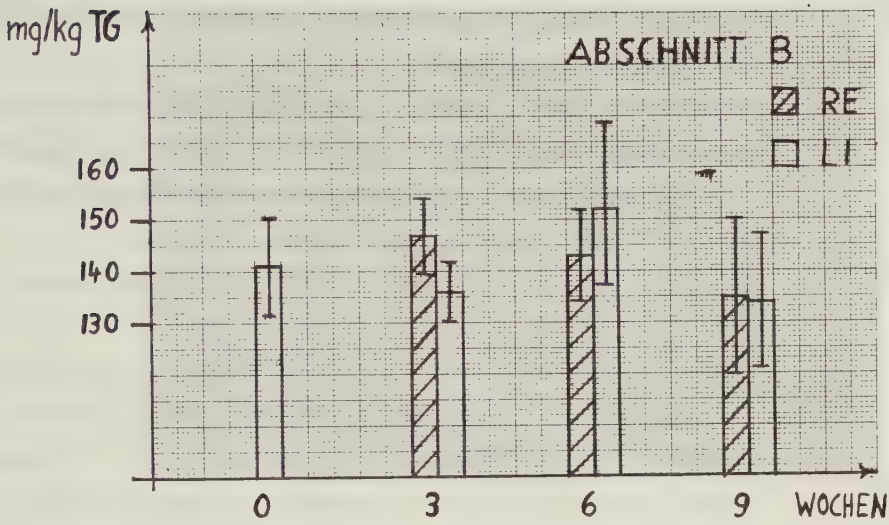

Abb. 14 :
Histogramm der Mittelwerte der Zinkkonzentrationen des mittleren Abschnittes B im Rechts-Links-Vergleich.

Nach 3 Wochen scheint es im Frakturbereich zu einem Anstieg der Zinkkonzentration im Knochen zu kommen, während in der Gegenseite im selben Zeitraum die Zinkkonzentration gegenüber den Normalwerten abfällt.

Diese einfachen Mittelwertsvergleiche gestatten aber noch keine gültige Aussage.

Um unsere Arbeitshypothese, daß sich Zink während der Frakturheilung in den Gebieten der Knochenneubildung anreichert, zu bestätigen, wandten wir das Verfahren der Varianzanalyse an.

3. 8. Statistische Auswertung der ermittelten Zinkkonzentrationen

Wie schon unter Punkt 2. 3. 2. erwähnt, benutzten wir eine Varianzanalyse mit 3 Faktoren. Die Faktoren waren: "Gruppe" (3, 6 und 9 Wochen), "Abschnitt" (A, B und C) und "Seite" (rechts und links), wobei "Abschnitt" und "Seite" bei abhängigen Meßwiederholungen gemessen wurden.

Um einen Unterschied nachweisen zu können, stellten wir zunächst die Nullhypothese H_o auf, daß kein Unterschied besteht. Wir werden die Hypothese ablehnen, wenn wir bei dieser Entscheidung höchstens einen Fehler mit der Wahrscheinlichkeit von 0,05 machen. Das heißt, daß wir auf einem Signifikanzniveau von 5% testen.

Globale Ergebnisse:

Zunächst wurden die Mittelwerte und die Standardabweichung der abhängigen Variablen (AR, BR, CR, AL, BL, CL) bestimmt (Tab. 4 und 5). Anschließend folgte die Varianzanalyse. Die Ergebnisse sind in der Varianztafel dargestellt (Tab. 6).

Auf dem 5%-Niveau zeigt sich, daß die Wechselwirkung zwischen "Seite" und "Zeit" und zwischen "Abschnitt" und "Zeit", sowie die 3-fach-Wechselwirkung zwischen "Seite", "Abschnitt" und

VARIANZTAFEL

Varianzursache	Freiheitsgrade	mittlere Quadrate	F-Wert	Überschreitungswahrscheinlichkeit
G(Zeit)	2	1242.36	2.31	0.128
ERROR	18	537.07		
S(Seite)	1	119.71	0.82	0.377
SG(Seite Zeit)	2	798.40	5.48	0.014
ERROR	18	145.64		
A(Abschnitt)	2	162.71	1.64	0.208
AG(Abschnitt Zeit)	4	300.34	3.03	0.030
ERROR	36	99.26		
SA(Seite Abschnitt)	2	150.59	2.07	0.141
SAG(Seite Abschnitt Zeit)	4	254.34	3.49	0.017
ERROR	36	72.87		

Tab. 6 :

Varianzanalyse der Zinkkonzentrationen im Knochen während der Frakturheilung beim Kaninchen.

Zeit signifikant sind, während sich eine Wirkung der Haupteffekte nicht nachweisen läßt. (Tab. 6)

Die signifikante Wechselwirkung zwischen "Seite" und "Zeit" bedeutet, daß der zeitliche Verlauf der Zinkkonzentrationen im Knochen auf der rechten (operierten) und linken (nicht operierten) Seite verschieden ist. Die Tatsache, daß sich kein Haupteffekt nachweisen läßt, ist ein Hinweis darauf, daß ein Unterschied im Niveau des zeitlichen Verlaufs nicht so deutlich ist.

Die signifikante Wechselwirkung zwischen "Abschnitt" und "Zeit" besagt, daß die Profilkurven der Abschnitte A, B und C zeitlich verschieden sind, wobei wieder keine Hauptwirkung deutlich wird.

Die 3-fach-Wechselwirkung zeigt, daß die Form der Profilkurven für die Abschnitte außerdem noch von der Seite abhängt.

Aufschlüsselung :

Um die Wechselwirkung zwischen "Seite" und "Zeit" näher zu spezifizieren, führten wir als nächstes einen Mittelwertvergleich durch und bildeten jeweils die Differenz zwischen der rechten und linken Seite über die Zeit. Anschließend wurden die Standardabweichung der Differenz und die standardisierte Differenz bestimmt und ein T-Test mit α-Adjustierung

(Bonferoni) angewandt. Die ermittelten Werte sind aus der folgenden Tabelle zu entnehmen.

Zeit (Gruppe)	Mittelwerte		Differenz	Standardabweichung der Differenz	standardisierte Differenz
	rechts	links			
3 Wochen	147.78	137.06	10.72	4.02	2.66
6 Wochen	145.94	144.29	1.66	4.02	0.41
9 Wochen	131.82	138.24	- 6.42	3.28	-1.96

Für einen T-Test mit α-Adjustierung (Bonferoni) ist der kritische Wert 2.66 (aus der Tafel interpoliert), der mit dem 3 Wochen-Wert der standardisierten Differenz übereinstimmt. Daraus ergibt sich der Schluß, daß bei einem multiplen T-Test mit α-Adjustierung nach 3 Wochen ein Unterschied zwischen der linken und rechten Seite hinsichtlich der Zinkkonzentration im Knochen besteht (Testniveau 5%). Ein Unterschied nach 6 und 9 Wochen kann nicht nachgewiesen werden.

Um auf die Wechselwirkung zwischen "Abschnitt" und "Gruppe" näher einzugehen, bildeten wir die Differenz zur Kontrollgruppe, gemittelt über die Abschnitte und Kaninchen. Dabei

berücksichtigten wir nur die Werte der rechten (operierten) Seite. Die ermittelten Ergebnisse sowie der Standardfehler und die standardisierte Differenz sind aus der folgenden Tabelle zu entnehmen.

Zeit (Gruppe)	Differenz zur Kontrollgruppe	standardisierte Differenz	Standard-fehler
3 Wochen	4.044	0.73	5.55
6 Wochen	2,211	0.40	5.55
9 Wochen	-11.911	2.37	5.02

24 Freiheitsgrade

Der kritische Wert bei einem multiplen T-Test mit α-Adjustierung (Bonferoni) ist 2.57 (interpoliert aus der Tafel). Individuelle Unterschiede zur Kontrollgruppe lassen sich somit nicht nachweisen.

4. DISKUSSION

Standardisierte Untersuchungen über die Konzentration des Spurenelementes Zink bei der Knochenbruchheilung unter nicht defizitären alimentären Bedingungen liegen bisher nicht vor.

3, 6 und 9 Wochen nach Setzen eines standardisierten Defektes von 3 mm Breite an der Kaninchentibia sind Knochenzylinder von 1 cm Breite im Frakturbereich, sowie im proximalen und distalen Teil mittels Atomspektrophotometrie auf die Konzentration von Zink untersucht worden. Als Vergleich diente die nicht operierte Gegenseite.

Dabei wurde der erste Untersuchungsabschnitt nach 3 Wochen, also nach Abschluß der bindegewebigen Kallusbildung gewählt, damit vergleichbare Gewebsproben zur Verfügung stehen. Nach Abschluß der knöchernen Kallusbildung beim Kaninchen, nach 6 Wochen, erfolgte die zweite Bestimmung. Eine Spätkontrolle erfolgte nach 9 Wochen.

Zu den gleichen Zeitpunkten erfolgte jeweils die Spurenelementanalyse im Blut der Tiere.

Die Zinkkonzentration im Blut war nur minimalen Schwankungen unterworfen. Nach KIRCHGESSNER (1977), BORCH (1975), sowie BEISEL und PEKAREK (1972) führen Streß und größere operative

Eingriffe zu einer Konzentrationsabnahme des Zinks im Serum. Da unsere früheste Zinkbestimmung im Blut erst 3 Wochen post operationem stattfand, ist dieser Effekt nicht nachprüfbar. Der Blutzinkspiegel wird außerdem von vielen schwer abschätzbaren Faktoren beeinflußt, wohingegen der Knochenpool des Zinks der beste Indikator für den jeweiligen Zink-Status eines Tieres ist (MOMCILOVIC et al., 1975).

Der nach 3 Wochen gestiegene Zinkwert im Kallusgewebe bei gleichzeitigem leichten Abfall der Zinkkonzentration in der nicht frakturierten Tibia entspricht dem aus der Literatur bekannten Anstieg der Zinkkonzentration am Ort der Kallusbildung (9, 11, 18, 19, 20, 27, 37).
BATTISTONE, CALHOUN sowie HAUMONT und MC LEAN sind sich darüber einig, daß Zink v.a. in den frühen Phasen der Knochenheilung von Bedeutung ist. Nach BATTISTONE ist, zumindest zu Beginn der Frakturheilung, die Bereitstellung von Zink der limitierende Faktor. Unsere Versuchstiere waren gesunde Kaninchen, die über die Nahrung mit genügend Zink versorgt wurden, so daß die Knochenbruchheilung normal verlief.

Mit Hilfe eines T-Testes mit -Adjustierung konnten wir nach 3 Wochen bei einem Testniveau von 5% einen signifikanten Unterschied der Zinkkonzentrationen der rechten (operierten) und linken (nicht operierten) Tibia nachweisen. Nach 6 und 9 Wochen war kein signifikanter Unterschied nach-

weisbar. Eine weitere Aufschlüsselung der zeitlichen Entwicklung der Verteilung der Zinkkonzentrationen in den einzelnen Abschnitten A, B und C brachte kein signifikantes Ergebnis.

Diese Untersuchung hat die Bedeutung des Zinks für die frühen Phasen der Frakturheilung unterstrichen.
Über welche biochemischen Wege Zink die Knochenbruchheilung beeinflußt, müssen weitere Untersuchungen klären.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Das Verhalten des Spurenelementes Zink im Blut und im Knochen während der Frakturheilung wurde am Beispiel des Kaninchens untersucht.

Die Bedeutung,die Zink gerade für die Frühphase der Kallusbildung besitzt wurde durch die Tatsache unterstrichen, daß 3 Wochen post operationem ein signifikanter Unterschied zwischen der rechten (operierten) und linken (nicht operierten) Seite nachweisen ließ. In der rechten Tibia accumulierte Zink zu diesem Zeitpunkt, während die linke Tibia leicht an Zink verarmte.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. Abramowicz et al.:
Zinc.
The Medical Letter 20, (13), 508 (1978)

2. Aitken, J. M.:
Factors affecting the distribution of zinc in the human sceleton.
Calif. Tiss. Res. 20, 23 (1976)

3. Allan, J. E.:
Analyst 86, 530 (1961)

4. Allgöwer, M. et al.:
Allgemeine und spezielle Chirurgie, 3. Auflage
Springer Verlag, 391 (1976)

5. Asling, J. M., Hurley, L. S.:
The influence of trace elements on the sceleton.
Clin. Orthop. 27, 213 (1963)

6. Auld, D. S., Atsuya, I.:
Yeast RNA polymerase I. A eukaryotic zinc metalloenzyme.
Biochem. biophys. Res. Comm. 69, 548 (1976)

7. Auld, D. S., Kawaguchi, M., Livingston, D. M., Vallee, B. L.:
RNA-dependent DNA polymerase (reverse transcriptase) from avian myoblastosis virus: an zinc metalloenzyme.
Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 71, 2091 (1974)

8. Battistone, G. C., Posey, W. R., Barone, J. J., Cutright, D. E.:
Zinc and bone healing: the effect of zinc-cysteamin-N-acetic on the healing of extraction wounds in rats.
Oral Surg. 34, (4), 704 (1972)

9. Battistone, G. C.:
Zinc and bone healing: the effect of zinc-cysteamin-N-acetic on the healing of experimentally injured guinea pig bone.
Oral Surg. 34, (3), 542 (1972)

10. Bergmann, B., Friberg, U., Lohmander, S., Öberg, T.:
Morphologic and autoradiographic observations on the effect of zinc deficiency on enchondral growth sites in the white rat.
Odont. Revy 25, 379 (1970)

11. Bergmann, B., Friberg, U., Lohmander, S., Öberg, T.:
The importance of zinc to cell proliferation in enchondral growth sites in the white rat.
Scand. J. Dent. Res. 80, 486 (1972)

12. Bethge et al.:
Versuche zur Verkürzung der Frakturheilungszeit.
Langenbecks Arch. Klin. Chir. 321, 318 (1968)

13. Bethge et al.:
Versuche zur Verkürzung der Frakturheilungszeit.
Langenbecks Arch. Chir. 333, 153 (1973)

14. Bierbach et al.:
Das Zinkmangelsyndrom.
Deutsche Medizin. Wochenschrift 104, 918 (1979)

15. Böhler, N., Bösch, P., Sandbach, G., Schlag, G., Eschberger, J., Schmid, L.:
Der Einfluß von homologem Fibrinogen auf die Osteotomieheilung beim Kaninchen.
Unfallheilkunde 80, 501 (1977)

16. Brandt, G., Schenk, J., Demmler, F., Popp, K. H.:
Spurenelementgehalt in Leber, Knochen und Ovar.
Zeitschr. für Geront. 8, (1), 28 (1974)

17. Brandt et al.:
Zink im Gewebe: Altersabhängigkeit und Lokalbefunde bei Kachexie, Leberzirrhose und Langzeitintensivtherapie.
Infusionstherapie 6, 225 (1979)

18. Calhoun, N. R., Smith, J. C., Becker, K. L.:
The role of zinc in bone metabolism.
Clin. Orthop. 103, 212 (1974)

19. Calhoun, N. R., Smith, J. C.:
Uptake of ^{65}Zn in fractured bones.
Lancet II, 682 (1968)

20. Calhoun, N. R., Campbell, S., Smith, J. C.:
Accumulation of labeled zinc, strontium and calcium in bone injuries.
J. Dent. Res. 49, 1083 (1970)

21. David, D. J.:
Analyst 83, 655 (1958)

22. Dietrich, F. E., Köhnlein, H. E., Kruse-Jarres J.:
Die Bedeutung von Zink bei der Heilung von Verbrennungswunden.
Monatsschr. Unfallheilkunde 77, (9), 422 (1974)

23. Fodor, L., Ahnefeld, F. W., Dölp, R.:
Die Bedeutung der Spurenelemente am Beispiel des Zinks.
Infusionstherapie 2, 5 (1973)

24. Fujioka, M., Liebermann, I.:
A Zn^{++} requirement for synthesis of deoxyribonucleic acid by rat liver.
J. Biol. Chem. 239, 1164 (1964)

25. Halsted, J. A., Ronaghy, H. A.:
Zinc deficiency in man, the Shiraz experiment.
Am. J. Med. 53, 277 (1972)

26. Halsted, J. A., Smith, J. C., Irwin, M. I.:
A conspectus of research on zinc requirements of man.
J. Nutr. 104, (3), 345 (1974)

27. Haumont, S.:
Distribution of zinc in bone tissue.
J. Histochem. 9, 141 (1961)

28. Heberer, G., Köle, W., Tscherne, H.:
Chirurgie
Springer Verlag, 696 (1977)

29. Hove, E., Elvehjem, C. A., Hart, E. B.:
Further studies on zinc deficiency in rats.
Am. J. Physiol. 124, 750 (1938)

30. Hurley, L. S., Gowan, J., Swenerton, H.:
Teratogenic effects of short-term and transitory zinc deficiency in rats.
Teratology 4, 199 (1971)

31. Keilin, D., Mann, T.:
Carbonic anhydrase. Purifikation and nature of the encyme.
Biochem. J. 34, 1163 (1940)

32. Koskinen, E. V. S.:
The repair of experimental fractures under the action of growth hormone, thyreotropin and cortisone.
A tissue-analytic, roentgenologic and autoradiographic study.
Annales Chirurg. et Gynaecol. Fenn. 90 (1959)

33. Koskinen, E. V. S.:
The influence of hormonal treatment and orchiectomie, oophorectomy and thyroidectomy on experimental fractures.
A quantitative P^{32} -autoradiographic, roentgenologic and tissue-analytic study.
Acta orthopaedica Scandinavia 80 (1965)

34. Liebermann, I., Ove, P.:
Deoxyribonucleic acid synthesis and its inhibition in mammalian cells cultured from the animal.
J. Biol. Chem. 237, 1634 (1962)

35. Lindner, A.:
Planen und Auswerten von Versuchen.
Birkhäuser Verlag (1959)

36. Mc Bean, L. D., Dove, J. T., Halsted, J. A., Smith, J. C.:
Zinc concentration in human tissues.
Am. J. Clin. Nutr. 25, 672 (1972)

37. Milachowski, K., Moschinski, D., Jaeschok, R., Kaschner, A.:
The influence of zinc on bone healing in rats.
Arch. Orthop. Traumat. Surg. 96, 17 (1980)

38. Moussawi, M., Steltmann, W., Benfer, J., Struck, H.:
Einfluß des Faktor XIII auf Wund- und Knochenbruchheilung.
Aktuelle Chirunrgie 13, 219 (1978)

39. Overhoff et al.:
Biologisch essentielle Elemente ("Spurenelemente").
Deutsches Ärzteblatt 6, 301 (1978)

40. Prasad, A. S., Halsted, J. A., Nadimi, M.:
Syndrom of iron deficiency aenemia, hepatosplenomegaly,
hypogonadism, drarfism and geophagia.
Amer. J. Med. 31, 532 (1961)

41. Prasad, A. S., Miale, A., Farid, Z., Sandsted, H. H., Schulert, A. R., Darby, W. J.:
Biochemical studies on dwarism, hypogonadism and anemia.
Arch. Intern. Med. III, 407 (1963)

42. Prasad, A. S.:
Zinc deficiency in man.
Medical & Scientific Books: New York - London, 1 (1978)

43. Raulin, J.:
Etudes cliniques sur la végétation.
Am. Sci. Natur. Botan. Biol. Végétale 11, 93 (1869)

44. Roth, Kirchgessner:
Zum Gehalt von Zink, Kupfer, Eisen, Mangan und Kalzium in Knochen und Lebern von an Zink depletierten Ratten.
Zbl. Vet. Med. A 24, 177 (1977)

45. Sandritter, W.:
Histopathologie, sechste Auflage
Schattauer Verlag, 209 (1975)

46. Sandritter W., Beneke, G.:
Allgemeine Pathologie
Schattauer Verlag, 615 (1974)

47. Seeling et al.:
Spurenelemente in der parenteralen Ernährung.
Klinikarzt 8, 145 (1979)

48. Seeling, W., Seeling, I.:
Die Bedeutung des Zinks als essentielles Kation im menschlichen Organismus.
Hrsg. J. D. Kruse-Jarres, TM-Verlag, Bad Oeynhausen (1979)

49. Sprague, S., Slavin, W.:
Atom. Absorpt. Newsletter 4, 228 (1965)

50. Swenerton, H., Shrader, R., Hurley, L. S.:
Zinc-deficient embryos: reduced thymidine incorporation.
Science 166, 1014 (1969)

51. Todd, W. R., Elevejehm, C. A., Hart, E. B.:
Zinc in the nutrition of the rat.
Am. J. Phys. 107, 146 (1934)

52. Wacker, W. E. C.:
Nucleic acids and metals. III Changes in nucleic acid, protein and metal content as a consequence of zinc deficiency in Euglena gracilis.
Biochemestry 1, 859 (1962)

53. Warren, E. C., Wacker, M. D.:
Biochemestry of zinc - Role in Wound Healing
Medical & Scientific Books: New York-London, 15 (1978)

54. Wegener, W. S., Romano, A. H.:
Zinc stimulation of RNA and protein synthesis in
Rhizopus nigricans.
Science 142, 1669 (1963)

55. Weigert, M.:
Anregung der Knochenbildung durch elektrischen Strom.
Hefte zur Unfallheilkunde 115 (1973)

56. Welz, B.:
Atom - Absorptions - Spektrographie
Verlag Chemie GmbH (1972)

57. Bortz, J.:
Lehrbuch der Statistik für Sozialwissenschaftler.
Springer Verlag (1979)

LEBENSLAUF

Am 4. Dezember 1954 wurde ich als Tochter des Elektroingenieurs Heinrich Stawinoga und seiner Ehefrau Doris, geborene Ullmann, in Rokitnica (Polen) geboren.
Die Einschulung in die Katholische Volksschule in Berge, Kreis Meschede erfolgte am 1.4.1961.
1965 wechselte ich auf das staatliche neusprachliche Mädchengymnasium in Meschede. Von 1967 bis 1969 besuchte ich die St. Franziskus-Schule, ein privates neusprachliches Mädchengymnasium in Olpe. 1969 wechselte ich auf das Konrad-Heresbach-Gymnasium in Düsseldorf-Mettmann, wo ich am 18.5.1973 das Zeugnis der Reife erhielt.
Im Sommer 1973 absolvierte ich mein Krankenhauspflegepraktikum im Elisabeth-Krankenhaus in Mettmann.
Das Studium der Medizin begann ich am 15.10.1973 an der Universität Düsseldorf. Das Physikum bestand ich am 25.8.1975 und den ersten Teil der ärztlichen Prüfung am 31.8.1976.
Im Frühjahr 1977 famulierte ich einen Monat im Sanatorium Königsfeld in Ennepetal. Von Juli bis September 1977 absolvierte ich eine Famulatur in einem Bantu-Hospital in Vereeniging, Transvaal (Südafrika). Im Sommer 1978 famulierte ich drei Monate lang im Moose Factory General Hospital in Moose Factory, Ontario (Canada).
Den zweiten Teil der ärztlichen Prüfung machte ich am 15.3.1979, ebenfalls in Düsseldorf. Dort legte ich auch im Juni 1980 das medizinische Staatsexamen ab.